

# RAPPORT FINAL

TEST D'APTITUDE EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE  
JUN 2010

MATRICE: PATE

DENOMBREMENT ET DETECTION

Section: Pathogènes alimentaires  
Polet Marie  
Rue J. Wytsman 14  
1050 Bruxelles | Belgique

[www.wiv-isp.be](http://www.wiv-isp.be)





Cette étude inter-laboratoire était destinée aux laboratoires agréés de l'AFSCA, dans le cadre du maintien de leur agrément.

## 1. Déroulement de l'étude

Vendredi 2 avril 2010	lettre d'invitation à l'inscription au ringtest
Mardi 27 avril 2010	lettre rappel pour l'inscription
Jeudi 27 mai 2010	groupe de communication ISP → explication du déroulement du ringtest
Vendredi 28 mai 2010	lettre d'information → instructions, schéma de préparation, template rapport
Lundi 14 juin 2010	lettre rappel dispatching
Jeudi 17 juin 2010	transport des colis par un chauffeur de l'ISP vers les 2 dispatchings (Melle et Gembloux)
Vendredi 18 juin 2010	transport des colis par les chauffeurs des laboratoires vers les laboratoires respectifs + lettre rappel instructions, schéma de préparation et template rapport
Lundi 21 juin 2010	début des analyses (22/06 pour un laboratoire)
Lundi 5 juillet 2010	résultats à rendre

Chaque colis contenait :

- un pâté crème conditionné sous atmosphère protectrice (exp : 29/06/10)
- un traceur de température (pour la plupart des laboratoires)
- 2 lyophilisats A et D pour l'énumération
- 2 lyophilisats B et C pour la détection
- un bloc réfrigérant
- les instructions et le schéma de préparation



21 laboratoires ont participé.

ILVO – VOEDING	Melle
SGS	Anvers
LALUG	Gand
AGROLAB	Battice
LOVAP	Geel
LECCA	Merelbeke
IEM	Liège
QUALITY PARTNER	Herstal
EURACETA	Villers-le-Bouillet
SILLIKER	Merville, France
FLVVM	Melle
LEQ	Bastogne
SERVACO FOOD CONTROL	Bavegem
VAHDB	Merelbeke
LASHA	Mouscron
LFSAGx	Gembloux
ARSIA	Mons
LAVETAN	Turnhout
ISP	Bruxelles
BIOTOX	Jabbeke
LARECO	Marche-en-Famenne



## 2. Composition des lyophilisats

### Souches utilisées :

- *Escherichia coli* : LMG 8223
- *Staphylococcus aureus* : ATCC 25923
- *Pseudomonas aeruginosa* : 5323, section « Biologie clinique » ISP
- *Bacillus cereus* : 6647, section « Biologie clinique » ISP
- *Salmonella* Harleystreet (souche CNR Salmonella)
- *Yersinia enterocolitica* : LMG 15558
- *Citrobacter freundii* : 4179, section « Biologie clinique » ISP

### 3 lyophilisats de composition différente ont été produits :

- ❖ A : *Escherichia coli* à une concentration d'environ  $1,4 \cdot 10^5$  cfu/ml  
*Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ  $3,8 \cdot 10^5$  cfu/ml  
*Pseudomonas aeruginosa* à une concentration d'environ  $5 \cdot 10^4$  cfu/ml
- ❖ B : *Bacillus cereus* à une concentration d'environ  $3,7 \cdot 10^5$  cfu/ml  
*Escherichia coli* à une concentration d'environ  $1,6 \cdot 10^6$  cfu/ml  
*Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ  $4 \cdot 10^4$  cfu/ml  
*Salmonella* à une concentration d'environ  $1 \cdot 10^3$  cfu/ml  
*Yersinia enterocolitica* à une concentration d'environ  $1,5 \cdot 10^5$  cfu/ml
- ❖ C et D : *Bacillus cereus* à une concentration d'environ  $2,5 \cdot 10^4$  cfu/ml  
*Escherichia coli* à une concentration d'environ  $2,6 \cdot 10^5$  cfu/ml  
*Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ  $4,7 \cdot 10^5$  cfu/ml



*Pseudomonas aeruginosa* à une concentration d'environ  $1,7 \cdot 10^5$  cfu/ml

*Citrobacter freundii* à une concentration d'environ  $8,8 \cdot 10^3$  cfu/ml

### 3. Paramètres à dénombrer et/ou rechercher

Lyophilisat A : dénombrement de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

Lyophilisat B : recherche de *Salmonella spp* et de *Yersinia enterocolitica*

Lyophilisat C : recherche de *Salmonella spp* et de *Yersinia enterocolitica*

Lyophilisat D : dénombrement de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

7 laboratoires n'ont pas effectué le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*

1 laboratoire n'a pas effectué le dénombrement de *Bacillus cereus*

2 laboratoires n'ont pas effectué le dénombrement d'*Escherichia coli*

1 laboratoire n'a pas effectué la recherche de *Salmonella spp*

Seuls 5 laboratoires ont effectué la recherche de *Yersinia enterocolitica*

### 4. Test d'homogénéité et de stabilité

Les lyophilisats ont été préparés le 10 juin 2010 : 40 lyophilisats A, 40 lyophilisats B et 70 lyophilisats C (= D).

Un test d'homogénéité dans de l'eau peptonée tamponnée a été réalisé sur 5 flacons de chaque type de lyophilisat le 14 juin 2010, pour chaque paramètre à dénombrer ou rechercher. L'homogénéité a été vérifiée et tous les paramètres étaient homogènes dans les flacons A, B et C-D. Seule l'homogénéité de *Salmonella* n'a pu être vérifiée, mais il était présent.



	valeurs moyennes A (log)	CV A	valeurs moyennes B (log)	CV B	valeurs moyennes C-D (log)	CV C-D
<i>Bacillus cereus</i>	/	/	4,559	0,023	3,407	0,014
<i>Escherichia coli</i>	4,138	0,022	5,195	0,019	4,415	0,024
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,558	0,038	3,578	0,044	4,663	0,019
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,562	0,108	/	/	4,118	0,096
<i>Yersinia enterocolitica</i>	/	/	4,130	0,052	/	/
<i>Citrobacter freundii</i>	/	/	/	/	2,915	0,0604
<i>Salmonella spp</i>	/	/	présence	présence	/	/

CV = coefficient de variation

Des études préliminaires de la stabilité (/paramètre/type de lyophilisat) ont été effectuées avant la préparation du dernier lot de lyophilisats. Certains germes n'étaient pas stables. Le dernier lot a donc été réalisé début juin afin de s'assurer qu'il soit stable jusque fin juin.

Pendant la préparation de l'étude, 4 lots des 3 lyophilisats ont été réalisés afin d'arriver le plus près des concentrations souhaitées.



Le 21 juin, jour du début des analyses pour tous les laboratoires, le LNR a réalisé 4 fois le ringtest complet, selon les instructions données.

La stabilité a aussi été vérifiée pendant le ringtest et tous les paramètres étaient stables au début des analyses (21 juin).

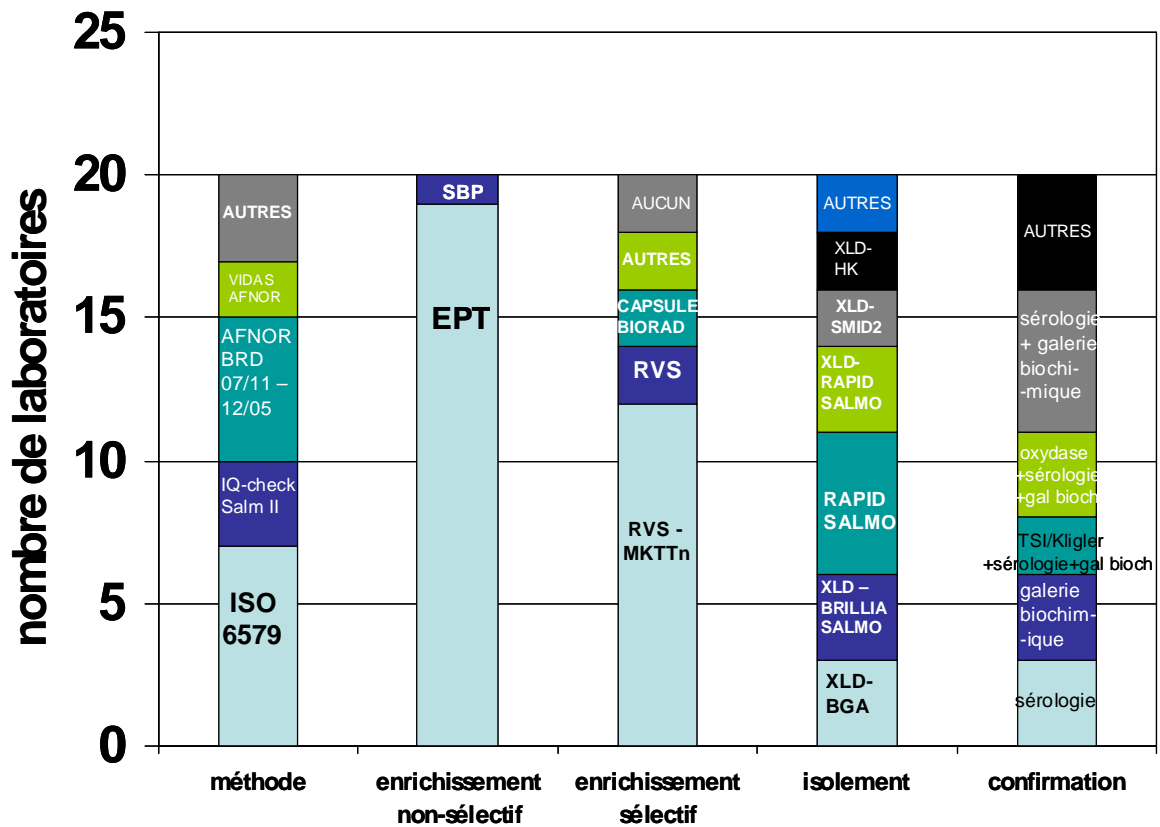
Valeurs moyennes en log

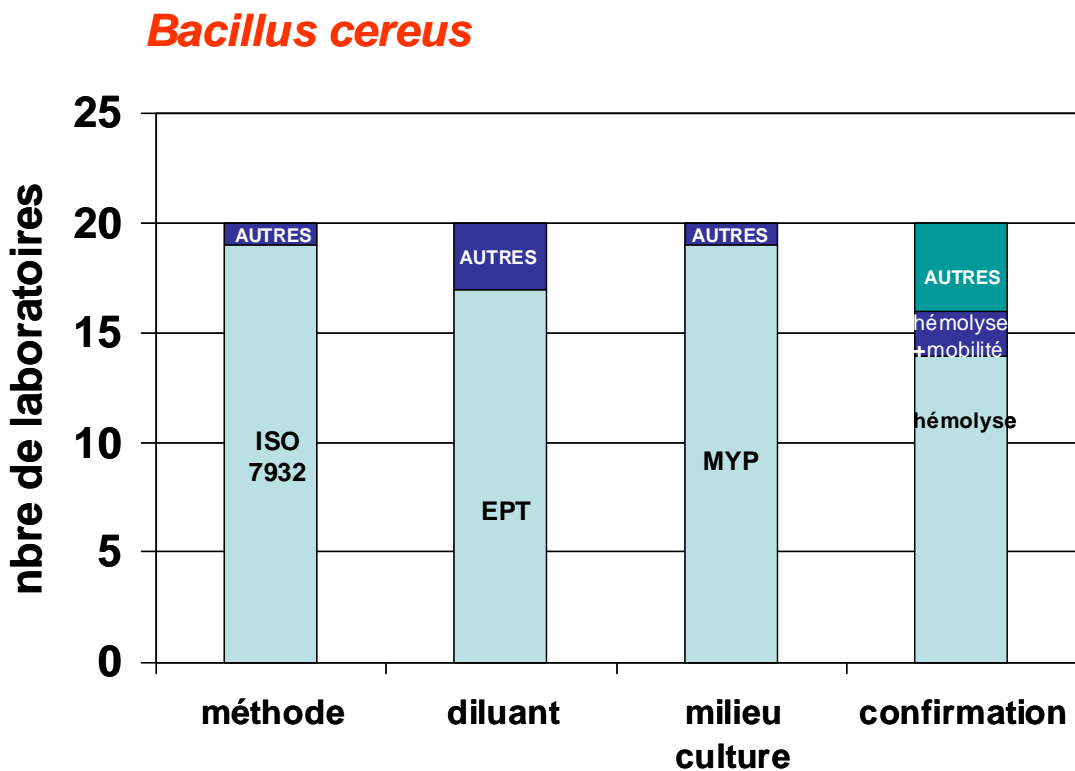
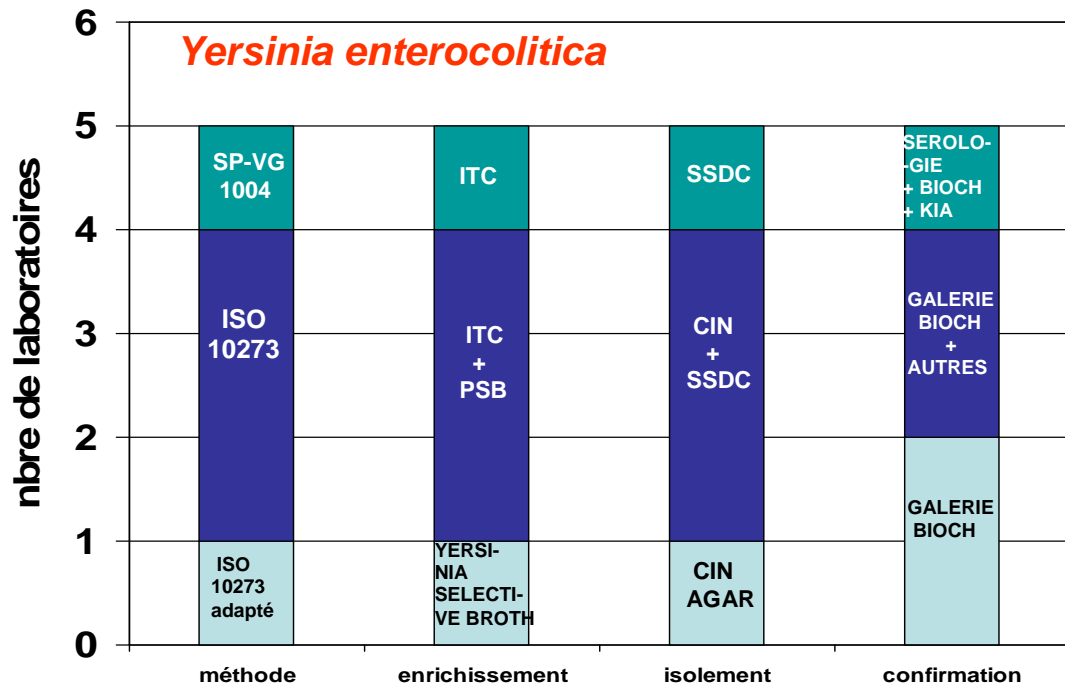
	A (log)	B	C-D
<i>Bacillus cereus</i>	/	/	3,260
<i>Escherichia coli</i>	3,992	/	4,320
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,577	/	4,624
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,423	/	3,582
<i>Yersinia enterocolitica</i>	/	présence	/
<i>Citrobacter freundii</i>	/	/	/
<i>Salmonella spp.</i>	/	présence	/



## 5. Compte-rendu des analyses

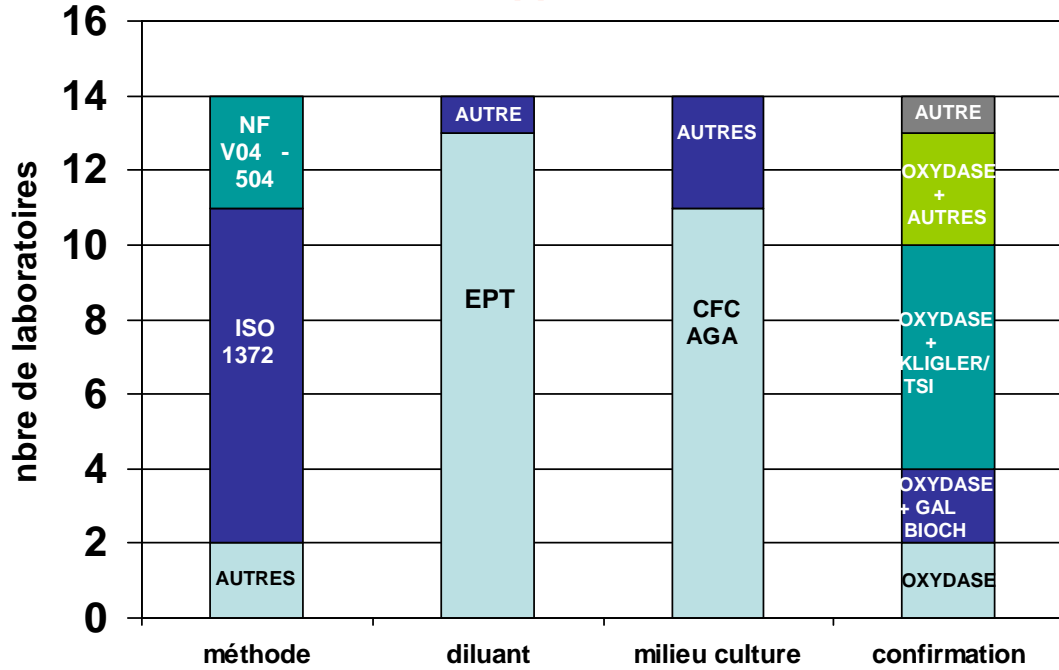
### Salmonella spp.



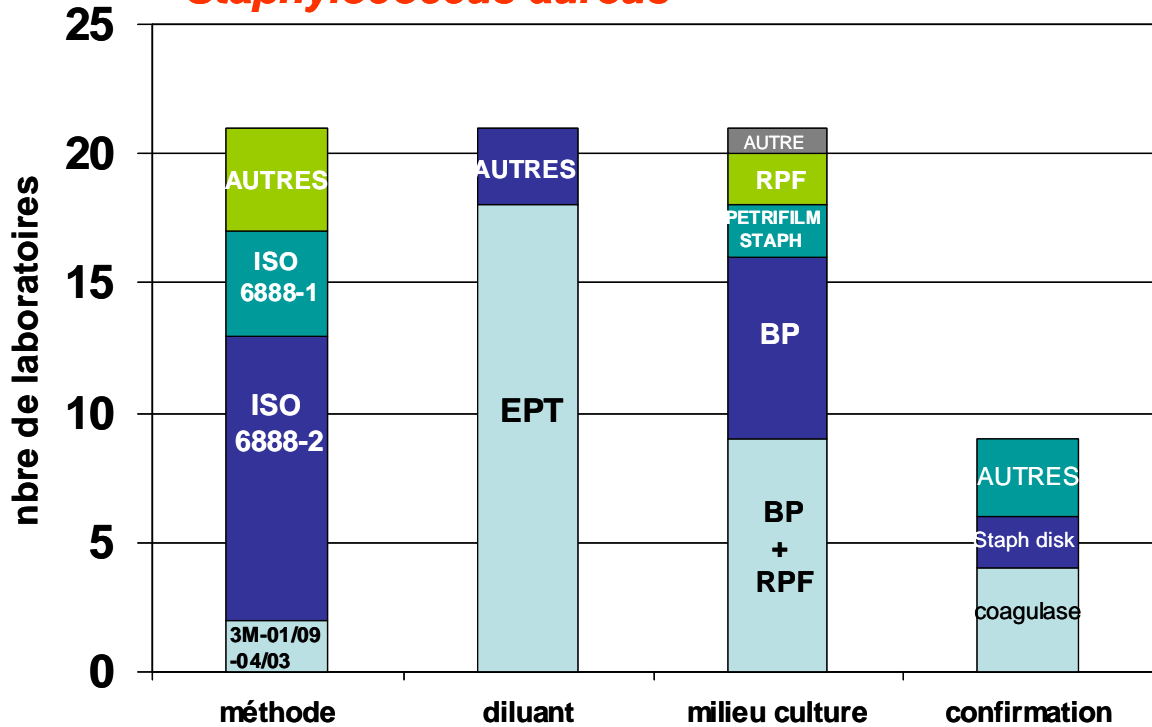


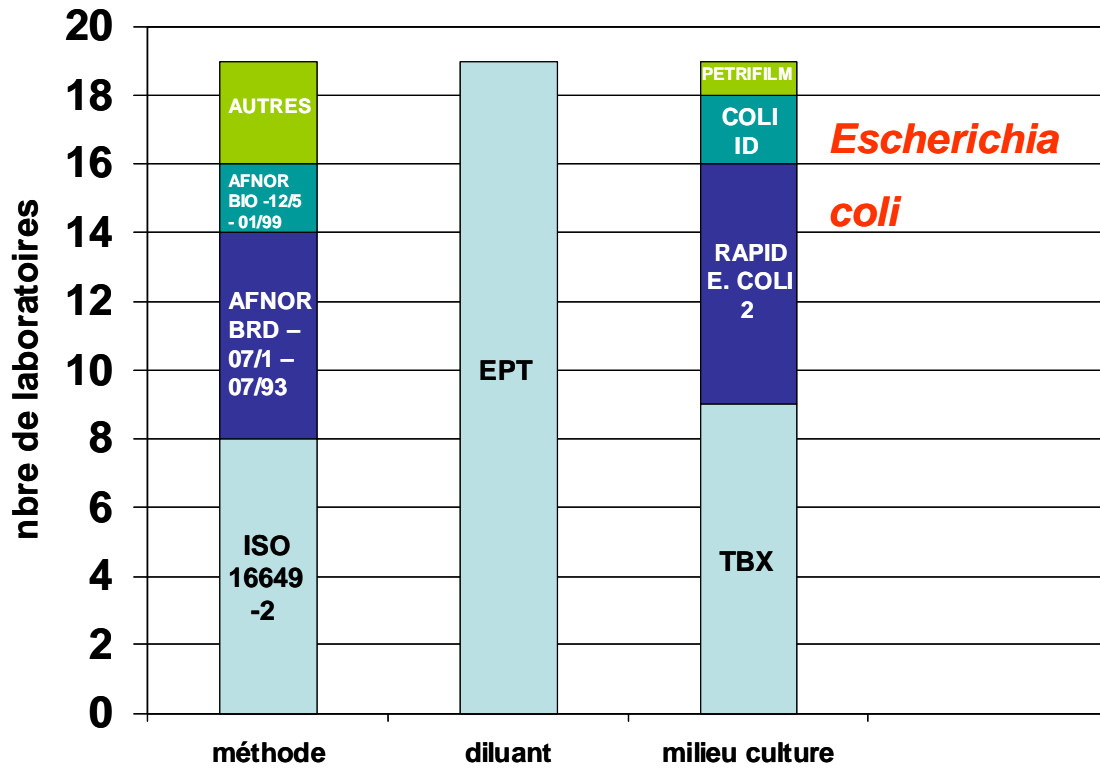


### *Pseudomonas spp.*



### *Staphylococcus aureus*



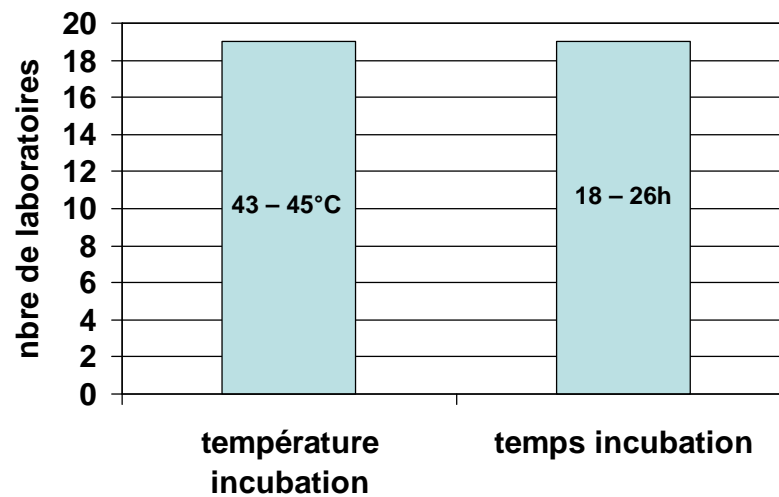


*Escherichia coli*

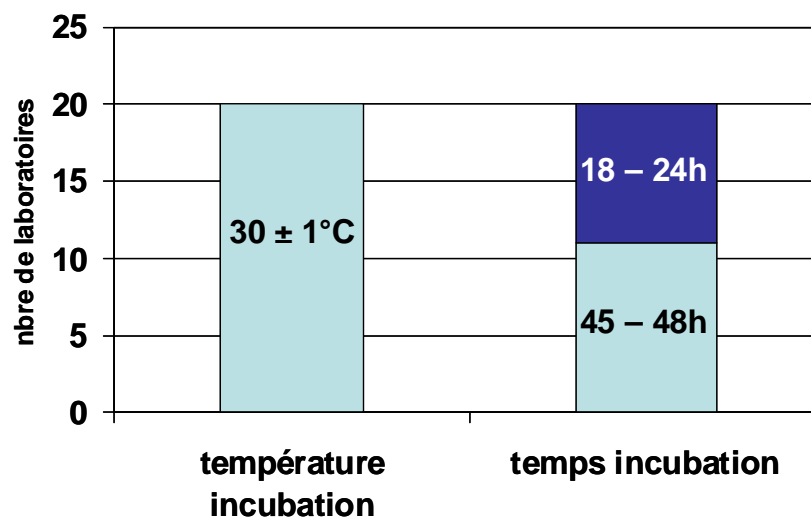


# Temps - température

## *Escherichia coli*

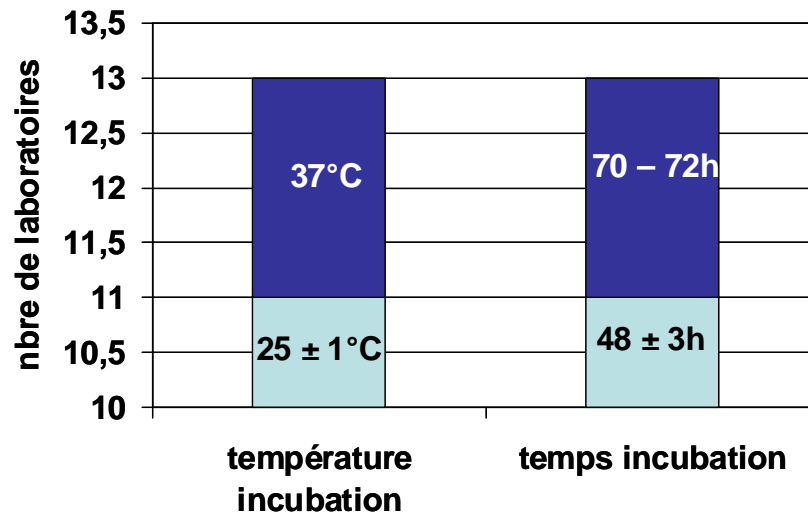


## *Bacillus cereus*

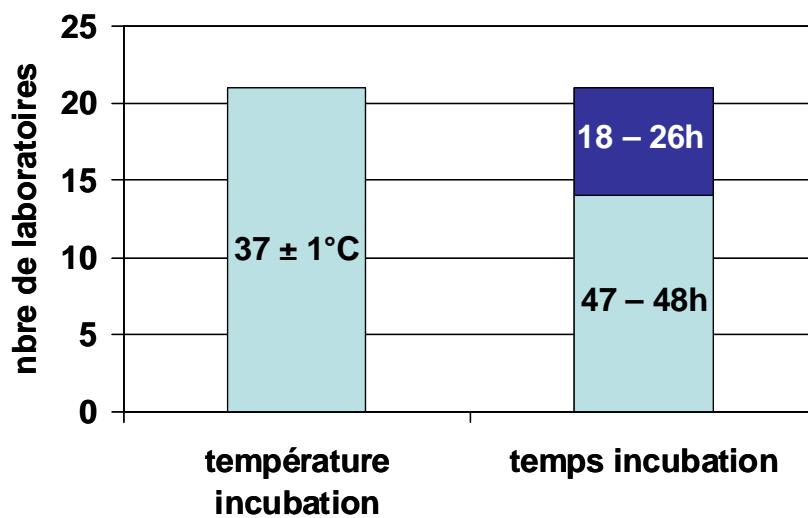




### ***Pseudomonas spp.***

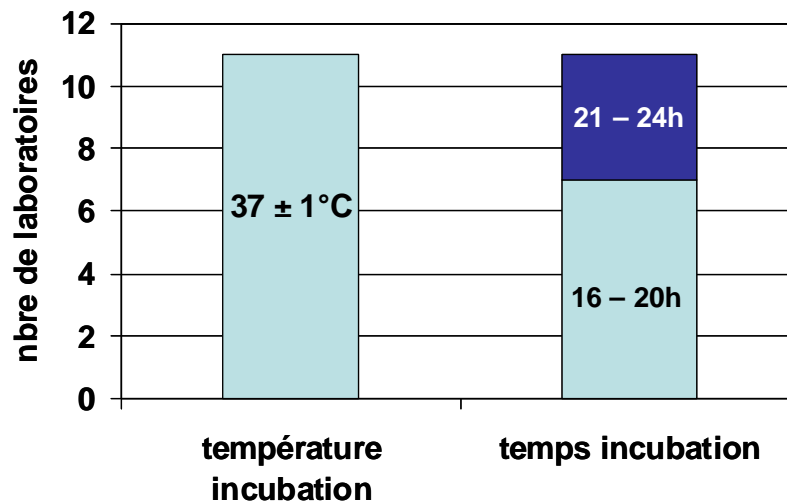


### ***Staphylococcus aureus***

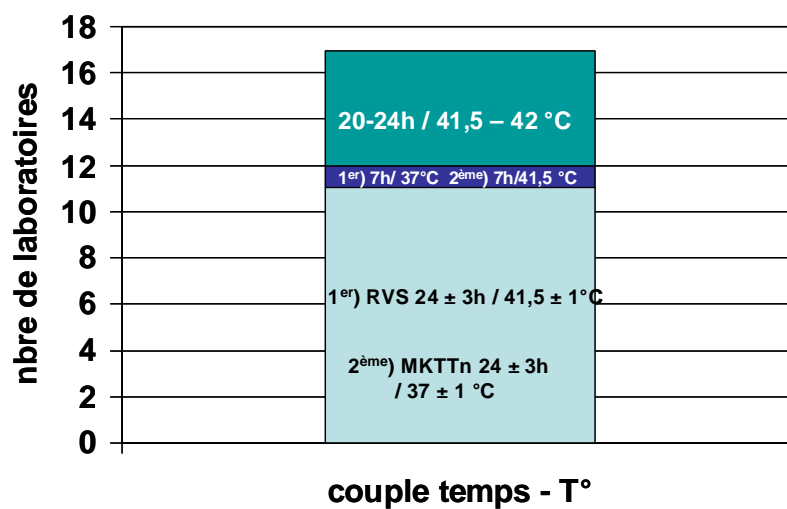




## Salmonella spp. (pré-enrichissement)

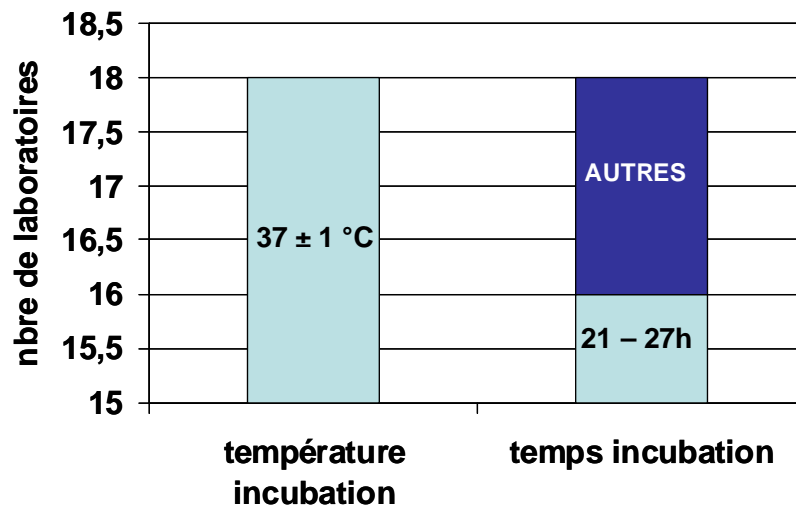


## Salmonella spp. (enrichissement)





## **Salmonella spp. (isolement)**





## 6. Z-scores

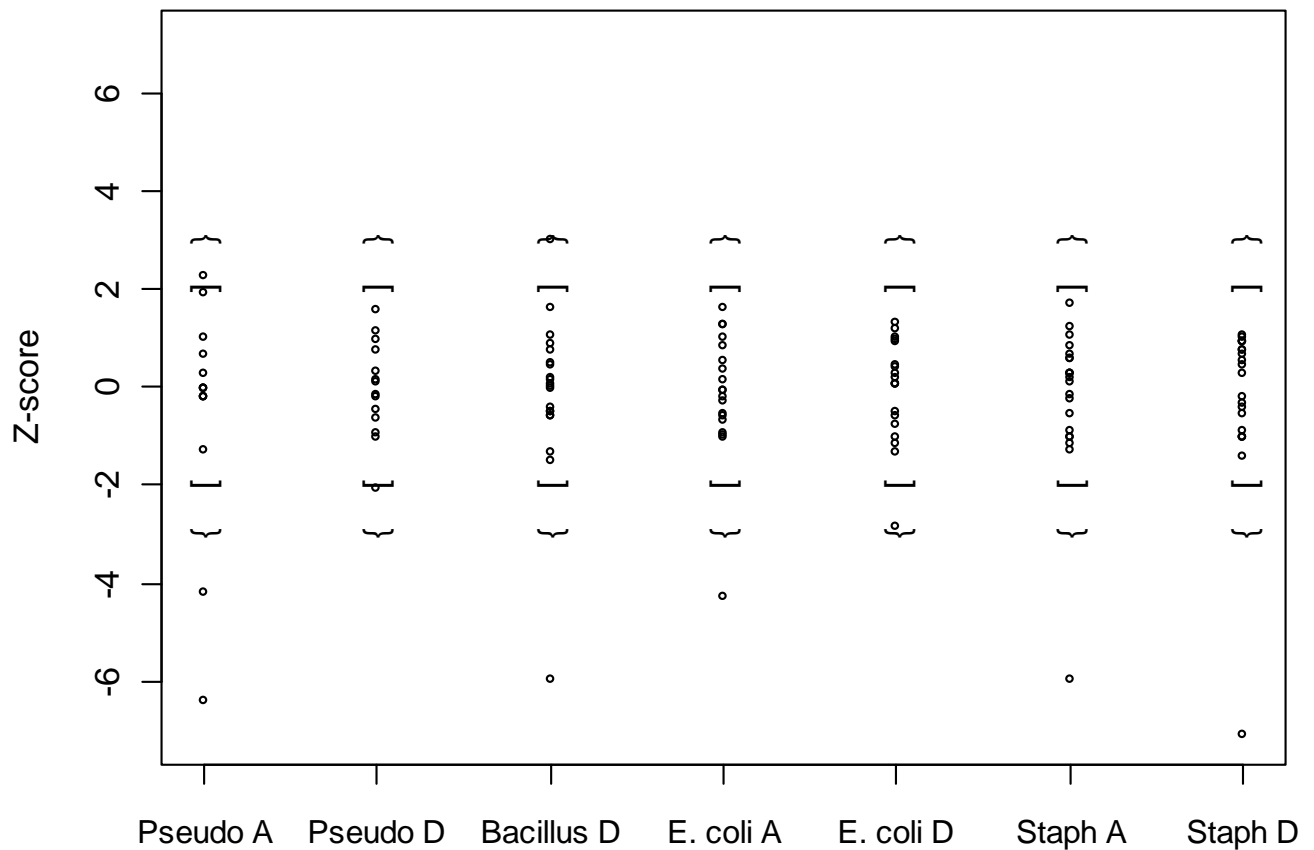
Tableau récapitulatif des z-scores des laboratoires

n° labo	Pseudo A	Pseudo D	Bacillus D	E coli A	E coli D	Staph A	Staph D
1	-0,028	0,119	3,002	1,274	1,000	0,856	1,066
2			0,886	-0,214	-0,787	-0,264	-0,214
3	-0,028	-1,038	-1,497	-0,556	-1,164	-1,283	-1,410
4	1,931	0,950	0,003			0,266	1,030
5	-0,028	-0,203	1,610	-0,073	0,054	-0,169	0,919
6			-0,611	-0,073	1,168	0,575	0,523
7	2,284	1,561	0,430	0,146	0,964	1,234	0,766
8			-0,038			1,727	-0,534
9	-4,194	-2,060	-0,406	0,856	1,319	-0,568	-1,009
10	1,024	1,131	1,059	1,274	0,927	0,575	0,687
11			0,500	1,004	0,179	0,100	0,766
12	-6,400	-0,956	0,207	1,627	0,453	-1,026	-1,009
13	0,650	0,758	0,764	0,529	0,054	1,051	0,919
14	-0,194	-0,456	-1,350	-0,672	0,054	0,184	-1,009
15	-0,194	-0,139	0,046	-0,990	-1,028	0,266	-0,424
16	-0,194	-0,624	0,128	-1,025	-1,313	0,266	0,439
17			-5,951	-4,272	-2,864	-5,993	-7,119
18			-0,506	-0,289	0,294	-1,152	-0,884
19	-1,294	0,145	-0,506	-0,923	-0,484	-1,026	-0,318
20				-0,613	-0,579	-0,905	0,264
21	0,269	0,314	-0,611	0,345	0,402	0,648	0,919

	Z-score entre 2 et 3 ou entre -2 et -3
	Z-score > 3 ou < -3
	non réalisé



### Graphique des z-scores des laboratoires



[ ] limites z-scores (+2 ; -2)

{ } limites z-scores (+3 ; -3)

La plupart des laboratoires ont un z-score satisfaisant.

Voici les causes (possibles) des résultats insatisfaisants pour les laboratoires ayant un z-score <3 ou >3 :

- laboratoire n° 3 : mauvaise qualité du fax → mauvaise lecture du résultat
- laboratoire n°9 et n°12 : *Pseudomonas spp* pousse sous 3 morphologies différentes sur CFC (causé par la lyophilisation), principalement la morphologie



typique, et minoritairement les 2 morphologies atypiques. Le lyophilisat D contient *Citrobacter freundii* qui est une colonie très ressemblante à *Pseudomonas spp* et qui pousse sur CFC → comptage uniquement des colonies typiques sur CFC ? → résultat inférieur pour le lyophilisat A et résultat satisfaisant pour le lyophilisat D

car *Citrobacter* est présent et est compté comme un *Pseudomonas spp*.

- laboratoire n° 17 : dénombrements inférieurs de 1 log car ils ont pris la solution-mère comme D0 et non comme D-1 (mauvaise lecture du schéma de préparation)

## 7. Résultats détection

n° labo	Salmonella		Salmonella		Yersinia B	Yersinia C
	B	C	C	B		
1	P	A	A	/	/	/
2	P	A	A	/	/	/
3	P	A	A	/	/	/
4	P	A	A	P	A	A
5	P	A	A	P	A	A
6	P	A	A	/	/	/
7	P	A	A	P	A	A
8	P	A	A	/	/	/
9	P	A	A	/	/	/
10	P	A	A	/	/	/
11	P	A	A	/	/	/
12	P	A	A	/	/	/
13	P	A	A	/	/	/
14	P	A	A	/	/	/
15	P	A	A	/	/	/
16	P	A	A	/	/	/
17	P	A	A	P	A	A
18	P	A	A	/	/	/
19	/	/	/	/	/	/
20	P	A	A	/	/	/
21	P	A	A	P	A	A

P = présence

A = absence

Tous les résultats sont corrects.



## **8. Conclusions**

Le premier essai d'aptitude organisé par le LNR s'est bien déroulé.

La plupart des laboratoires ont des résultats satisfaisants et les causes possibles des résultats insatisfaisants ont été relevées.

Un rapport intermédiaire a été envoyé à chaque laboratoire à la fin du mois d'août. Le rapport final est envoyé début décembre.

Un essai d'aptitude similaire va être réorganisé en juin 2011. Les paramètres à dénombrer ou à rechercher varieront légèrement par rapport à cet essai et la matrice sera différente.